Cholin-esterase in menschlichen Organen mit innerer Sekretion

---

Verkürzte Fassung der

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der medizinischen Fakultät
der Universität Basel vorgelegt

von

Heinrich Langemann
von Zürich

BASEL
Buchdruckerei Emil Birkhäuser & Cie., A. G.
1942

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von Herrn Professor Dr. *S. Edlbacher*.

Tag der Promotion: 19. 12. 1941.

Prof. Dr. med. *A. Gigon*
Dekan.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Separatabdruck aus Helvetica Chimica Acta, Volumen XXV,
Fasciculus Secundus 1942.

Cholin-esterase in menschlichen Organen mit innerer Sekretion.

Im Anschluss an die Entdeckung der Beeinflussung der Cholinesterase (ChE) durch das Follikelhormon durch *Birkhäuser* und *Zeller*[1])[2])[3])[4]) stellte sich die Frage nach einem gesetzmässigen Zusammenhang dieses Fermentes mit weitern Hormonen und Organen mit innerer Sekretion. Eine solche Beziehung ist von vornherein durch die Tatsache der engen gegenseitigen Verflechtung der Funktionen aller inkretorischen Organe gegeben. Eine Änderung in der Tätigkeit eines der hormonalen Systeme führt zwangsläufig zu solchen in den andern. Es ist anzunehmen, dass hierbei auch der Fermentapparat innersekretorischer Drüsen beeinflusst wird. Besonders wichtig wäre die Feststellung von Zusammenhängen zwischen der Funktion der Hypophyse und enzymatischen Reaktionen, da diese allen andern hormonalen Organen übergeordnet ist. In der vorliegenden Arbeit wird durch die Bestimmung des ChE-Gehalts verschiedener innersekretorischer Drüsen versucht, einen Einblick in diese Verhältnisse zu gewinnen. Auch die kürzlich erhobenen Befunde, dass die ChE verschiedener Organe durch die gleiche Inhibitorkonzentration sehr verschieden beeinflusst wird (*Zeller*[5])), lässt es als notwendig erscheinen, die ChE-Konzentration verschiedener Organe zu kennen, um die Einwirkung von physiologisch oder pharmakologisch aktiven Stoffen auf den Organismus beurteilen zu können.

In der Literatur finden sich über Untersuchungen des ChE-Gehalts inkretorischer Menschen- und Tierorgane keine oder nur recht unbestimmte Angaben[6])[7]). Auf alle Fälle dürfen Werte, die bei einzelnen Tierarten gefunden wurden, nicht auf andere oder gar auf den Menschen übertragen werden, da schon die Enzymkonzentration zwischen nahe verwandten Tierarten sehr grosse Unterschiede aufweisen kann[4]).

---

[1]) *H. Birkhäuser* und *E. A. Zeller*, Helv. **23**, 1460 (1940).
[2]) *E. A. Zeller* und *H. Birkhäuser*, Helv. **24**, 120 (1941).
[3]) *E. A. Zeller* et al., Helv. **24**, 962 (1941).
[4]) *E. A. Zeller* et al., Helv. **24**, 1465 (1941).
[5]) *E. A. Zeller*, Helv. **25**, 216 (1942).
[6]) *A. Marnay*, C. r. Soc. biol. Paris, **128**, 519 (1938).
[7]) *D. Glick*, Proc. Soc. exptl. Biol. Med. **40** (1939).

Es wurde vorerst versucht, die normalen ChE-Werte festzustellen, um später die pathologischen erfassen zu können. Die Ergebnisse bilden einen Beitrag zur Aufstellung einer Fermenttopographie, die möglichst genaue Aufschlüsse über das Vorkommen und die Konzentration der wichtigsten Fermente in den verschiedenen Organen erteilen soll. Für die Beurteilung der Resultate sind folgende Faktoren zu berücksichtigen: Geschlecht, Alter, allgemeiner Körper- und Ernährungszustand, Todesursache, Eigenschaften des untersuchten Materials wie postmortale Veränderungen, Zeitdauer vom Tod bis zum Versuchsbeginn. Von weiterer Bedeutung für den ChE-Gehalt könnten auch gewisse Medikamente sein, die dem Individuum in der letzten Zeit vor dem Tod gegeben worden sind. So ist bekannt, dass Gallensäuren, Methylenblau und andere Farbstoffe, sowie Sulfonamide die ChE hemmen. Letztere hemmen noch in Konzentrationen, wie sie bei der Therapie im Organismus angewandt werden (5—30 mg%)[1]).

Methodik.

Die ChE-Aktivität wurde manometrisch, nach der Methode von *Ammon* bestimmt[2]). Eine Gewebssuspension in hydrogencarbonathaltiger *Ringer*-Lösung (*Ringer*-30, $p_H = 7{,}8$) wird mit einer ACh-Lösung zur Reaktion gebracht. Das im Gewebe vorhandene Ferment hydrolysiert das ACh in Cholin und Essigsäure, welche pro Molekel je eine Molekel Kohlendioxyd aus der *Ringer*-Lösung freimacht und in den Gasraum des Versuchsgefässes übertreten lässt. Es wird nach 60 Minuten durch Ablesen des Manometers bestimmt, wie viele mm^3 Kohlendioxyd in Freiheit gesetzt worden sind.

Fig. 1 stellt einen gewöhnlichen Versuchsverlauf dar. Da der Reaktionsverlauf der ACh-Spaltung annähernd durch eine Gerade ausdrückbar ist, so kann die ChE-Aktivität einfach durch den 60-Minutenwert angegeben werden. Der Leerwert entsteht dadurch, dass anstelle der ACh-Lösung gewöhnliche *Ringer*-Lösung verwendet wird.

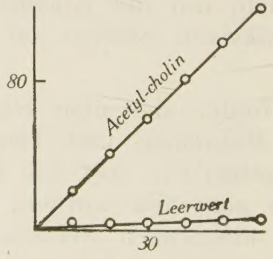

Fig. 1.
Verlauf der ChE-Spaltung in Thymus.
Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: mm^3 CO_2.

In der praktischen Durchführung der Bestimmungen wurde ähnlich wie in den Versuchen von *Birkhäuser* vorgegangen[3]). Es wurde ein Teil Gewebe in 31 Teilen *Ringer*-

[1]) *E. A. Zeller*, Verh. Schweiz. Physiol. Juli 1941.
[2]) *R. Ammon*, Arch. ges. Physiol. **233**, 486 (1933).
[3]) *H. Birkhäuser*, Helv. **23**, 1071 (1940).

Lösung suspendiert und davon 2,0 cm³ in den Hauptraum des Manometergefässes gebracht. Nach Durchströmen mit 95% Stickstoff und 5% Kohlendioxyd und Temperaturausgleich im Thermostaten bei 38° wurden aus dem seitlichen Anhang des Gefässes 0,5 cm³ Acetylcholin-Lösung zu der Gewebssuspension gekippt und dadurch die Reaktion eingeleitet. Endkonzentrationen: Gewebe 2,5%, ACh-Lösung 0,3%. Bei einigen sehr kleinen Organen wurden Verdünnungen des Gewebes von 1% angewendet (*Birkhäuser:* 0,62% Hirngewebe). Die jeweils vor Versuchsbeginn frisch hergestellte Lösung von Acetylcholin-chlorid („*Roche*") ergab für 7,5 mg ACh eine Spontanhydrolyse von durchschnittlich 15 mm³ pro Stunde. Um zu kontrollieren, ob die ACh-Hydrolyse durch Fermentwirkung erfolgt sei, wurde den Gewebssuspensionen bei neu zu untersuchenden Organen 0,2 cm³ einer 0,02-proz. Lösung von Physostigminum sulfuricum, = 0,04 mg zugesetzt. Nach *Ammon* und *Voss* hemmen 0,01 mg Physostigmin pro 2,0 cm³ Fermentlösung die ChE sicher vollständig[1]).

Auch in dieser Versuchsreihe wurde festgestellt, dass die ChE-Aktivität bei Aufbewahrung der Organe im Eiskasten während einer Woche unverändert bleibt, was die Befunde anderer Autoren bestätigt [2])[3]). Die meisten Gewebssuspensionen sind beinahe farblos. Sie enthalten weniger als 1% Blut, da sie schwächer rot gefärbt sind als eine Mischung aus einem Teil einer 2-proz. Blutlösung mit einem Teil einer Gewebssuspension. Es können also auch die ganz niederen ChE-Werte einzelner Organe nur zu einem kleinen Teil durch Blut-ChE verursacht sein, denn 1% Blut würde pro cm³ nur 25—36 cm³ Kohlendioxyd freimachen.

Bei stärkerer Verdünnung der Gewebssuspensionen ist die ACh-Spaltung (bezogen auf gleiche Gewichte) nur um ein Geringes grösser, was die Versuche von *Birkhäuser* bestätigt, der fand, dass sich die ChE-Aktivität innerhalb weiter Grenzen umgekehrt proportional zum Verdünnungsgrad verhält. Im Gegensatz dazu fanden andere Autoren Unterschiede in der ChE-Aktivität bei verschiedenen Konzentrationen von Ferment und Substrat um das 2—4fache[4]).

Bei den einzelnen Organen sind die Leerwerte von sehr verschiedener Grösse. Sie wurden, um vergleichbare Resultate zu erhalten, in allen Fällen vom Hauptwert abgezogen. Im übrigen sei auf die Leerwertdiskussion von *Zeller* hingewiesen[5]).

Die Zahlenwerte in den Tabellen geben an, wie viele mm³ Kohlendioxyd pro g Gewebe durch die Fermentwirkung in einer Stunde freigeworden sind. Da sämtliche Versuche mit der gleich grossen Menge ACh ausgeführt wurden, musste auch in allen Fällen der gleiche Wert für die Spontanhydrolyse des ACh vom Hauptwert abgezogen werden, was für die Organe mit geringer Aktivität auf das Endergebnis am meisten ausmacht. Dadurch, dass ausserdem der Leerwert abgezogen wird, sind einzelne Minuswerte entstanden (besonders bei den Physostigminkontrollversuchen). Die Tabellen mit den Angaben der Einzelversuche sind nach Alter und Geschlecht geordnet.

In den Versuchen Nr. 704 und 705 sind Vorderlappen und Hinterlappen voneinander getrennt untersucht worden. Die ChE-Aktivität des Hinterlappens ist dreimal so gross wie die des Vorderlappens. Ausser den bekannten grossen Unterschieden in anatomischer, entwicklungsgeschichtlicher und physiologischer Hinsicht der beiden Teile dieses Organs ist nun auch ein sehr verschiedenes Verhalten ihres Fermentstoffwechsels festgestellt worden.

---

[1]) *R. Ammon* und *G. Voss*, Arch. ges. Physiol. **235**, 393 (1935).
[2]) *H. Birkhäuser*, Helv. **23**, 1071 (1940).
[3]) *G. A. Alles* and *R. C. Hawes*, J. Biol. Chem. **133**, 375 (1940).
[4]) *Fegler* et al. zitiert nach Ber. ges. Physiol. **109**, 176 (1939).
[5]) *E. A. Zeller*, Helv. **25**, 216 (1942).

Ergebnisse.

Hypophyse.

Tabelle I.

Nr.	Geschlt.	Alter	Wert	Todesursache	Physostig.
608	m	54	Vl + Hl 1185	chron. Herzinsuffiz.	—
697	m	71	Vl 379	Ca	—
705	m	24	Hl 2330 Vl 658	Schädelfraktur	40 —
673	w	1¼	Vl 813	Bronchopneumonie	—
698	w	8	Vl 262	Sepsis	—
615	w	26	Vl + Hl 981	Lungen-Tb.	—
680	w	69	Vl 366	Herzinfarkt	– 272
613	w	78	Vl + Hl 866	Hirnerweichung	—
704	w	47	Hl 2730 Vl 783	Ca	— —

Vl = Vorderlappen Hl = Hinterlappen

Da es bei der präparativen Trennung von Vl und Hl fast unmöglich ist, den Vl frei von Hl-Gewebe zu bekommen, dürften die erhaltenen Vl-Werte eher zu gross sein, als den Tatsachen entspricht. Die Werte für den Hl liegen etwa zwischen denen, die *Birkhäuser* für Hirnrinde und Thalamus erhalten hat, sind also, verglichen mit denen anderer Hirnteile, ziemlich niedrig. (Putamen hat den Wert 56000[1]). Das elektrische Organ des Zitterrochens (Torpedo) 22000 bis 44000 bei 20°)[2]).

Nebenniere.

Die Trennung von Rinde und Mark ist nur unvollkommen möglich.

Der Unterschied zwischen Rinde und Mark ist in allen Fällen sehr deutlich. Da das Nebennierenmark mehr ChE enthält als die Rinde, so muss dort auch ein grösserer ACh-Umsatz vorhanden sein. Das stimmt mit den biologischen Experimenten überein, die ergeben, dass beim Menschen im Mark fünfmal mehr ACh vorhanden ist als in der Rinde[3]). Das ACh wird durch Erregung von präganglionären, cholinergischen Nervenfasern im Mark der Nebenniere in Freiheit gesetzt und löst dadurch die Produktion von Adrenalin aus. Cholin hingegen findet sich im Mark beim Pferd in siebenmal geringerer

[1]) *H. Birkhäuser*, Helv. **23**, 1071 (1940).

[2]) *D. Nachmansohn* et *E. Lederer*, C. r. Soc. biol. Paris **130**, 321 (1939).

[3]) *J. H. Gaddum* und *H. H. Dale*, Gefässerweiternde Stoffe, S. 72 (1939), Leipzig.

Menge als in der Rinde[1]). Die Anhäufung von Substrat und Ferment im Mark einerseits und die des Reaktionsproduktes Cholin in der Rinde andererseits weist auf einen starken Unterschied im Stoffwechsel zwischen Rinde und Mark hin. Der hohe ChE-Gehalt im Mark darf zum Teil auf das dort sehr reichliche Vorkommen an Nervenfasern und besonders auch an Ganglienzellen zurückgeführt werden.

Tabelle II.

In der Kolonne „Wert" wird oben der Wert für die Rinde, unten der für das Mark angegeben.

Nr.	Geschlt.	Alter	Wert	Todesursache	Physostig.	Verhältnis v. Mark z. Rinde
705	m	24	398	Schädelfraktur	—	3,75
			3480		—	
703	m	55	218	Endokarditis	—	12,01
			2635		—	
644	m	61	488	Mesaortitis luetica	—	4,10
			2020		—	
651	m	63	256	Ileum-incarceration	—	7,08
			1815		—	
634	m	66	182	Kankroid	—	12,53
			2280		—	
620	m	73	602	Bronchopneumonie	– 80	4,00
			2401		– 66	
639	w	33	424	Ovar Ca	—	8,75
			1515		—	
704	w	47	138	Portio Ca	—	9,17
			1265		—	
680	w	69	210	Herz- u. Lungeninfarkt	—	11,10
			2330			

Thyreoidea.

Die Werte (vgl. Tabelle IIIc) sind im Durchschnitt ziemlich niedrig und zeigen untereinander starke Schwankungen in ihrer Grösse, welche teilweise durch die Einwirkung von Krankheiten und Todesursachen auf das untersuchte Gewebe erklärt werden müssen.

Thymus.

Dieses Organ, das einerseits von Hypophyse und Thyreoidea gefördert, andererseits von Nebenniere und Keimdrüsen gehemmt wird, zeigt recht hohe Werte (vgl. Tabelle IIIb). Da die Thymus-

[1]) *M. Guggenheim*, Biogene Amine, S. 85 (1940), Basel.

drüse ein Organ ist, das nur schwach mit Nervenfasern versorgt ist, kann man nicht wie beim Hypophysen-Hl oder beim Nebennierenmark den hohen ChE-Gehalt mit einer besonders grossen Menge Nervengewebe in Verbindung bringen.

Geschlechtsorgane.

Ovar, Hoden und Nebenhoden

zeigen wie Thymus die untereinander gleichmässigsten Werte (vgl. Tabelle III c), trotzdem diese Gewebe aus zum Teil stark pathologisch veränderten Organismen stammten. Der Nebenhoden, der nicht zu den inkretorischen Organen gerechnet wird, wurde in dieser Versuchsreihe untersucht, weil er mit seiner motorischen und exkretorischen Tätigkeit in enger Abhängigkeit vom Hoden steht. Der Unterschied zwischen Nebenhoden und Hoden ist signifikant und beträgt $\Delta = 4{,}13$;

$$\Delta = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2}}.$$

Aus der Grösse Δ kann man ersehen, ob die Mittelwerte M zweier Versuchsreihen zufällig oder wirklich von einander verschieden sind. Es besteht ein signifikanter Unterschied, wenn Δ mindestens 2 ist (ε = mittlere Abweichung des Mittelwerts s. u.).

Pankreas.

Die Wertunterschiede zwischen den einzelnen untersuchten Organen sind hier sehr gross. Der Durchschnittswert von 250 ist gegenüber dem bei Tieren gefundenen klein. *Marnay* fand für Meerschweinchen 22000, Hund 15000, Rind 1700 (*Marnay*, l. c.). Besonders auffällig ist der Verlauf von Haupt- und Leerwert während der ersten 10 Minuten (s. Fig. 2). Der Kurvenverlauf gleicht genau dem von *Zeller* und *Joël* für das Spermaplasma beschriebenen[1]).

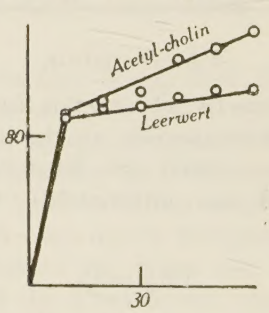

Fig. 2.
Verlauf der ChE-Spaltung in Pankreas.
Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: mm^3 CO_2.

[1]) *E. A. Zeller* und *C. A. Joël*, Helv. **24**, 968 (1941).

Die zu Beginn sehr rasche Kohlendioxydproduktion kann auf das Vorhandensein der Carbonsäure-anhydrase, die die Reaktion

$$CO_2 + H_2O \rightleftarrows HCO_3' + H^{\cdot}$$

katalysiert, zurückgeführt werden. Nach *Roughton* kommt dieses Ferment in gleich grosser Menge in Erythrozyten, Magenschleimhaut, Duodenum, Ileum, Pankreas, dann auch im Sperma vor[1]).

Dünndarm.

Für die Versuche wurde die Schleimhaut des oberen Jejunums verwendet. Die Werte sind im Mittel ebenso hoch wie die im Serum.

Tabelle IIIa.

Organ	N	M	σ	ε
Hypophyse Hl	2	2530	283	200
Nebennierenmark . . .	9	2217	655	218
Dünndarm	8	2279	912	323

Die Werte von Hypophyse Hl, Nebennierenmark und Dünndarm unterscheiden sich deutlich von den übrigen und sind etwa gleich gross wie die Serumwerte[2]).

Tabelle IIIb.

Organ	N	M	σ	ε
Thymus	6	1219	302	124

Auch Thymus fällt durch ihren Gehalt an ChE auf. Wesentlich kleiner sind die Werte der folgenden Gruppe:

Tabelle IIIc.

Organ	N	M	σ	ε
Hypophysen Vl	6	554	237	97
Thyreoidea	9	250	169	56
Pankreas	11	250	284	86
Nebennierenrinde . . .	9	324	159	53
Ovar	6	456	122	50
Hoden	12	191	87	25
Nebenhoden	8	499	175	62

N = Anzahl der untersuchten Fälle M = Mittelwert

[1]) *F. J. Roughton*, Ergeb. Enzymforsch. **3**, 289 (1934).
[2]) *H. Birkhäuser* und *E. A. Zeller*, Helv. **23**, 1460 (1940).

$\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}}$ = mittlere Abweichung der Einzelbestimmung.

$\varepsilon = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$ = mittlere Abweichung des Mittelwerts oder mittlerer Fehler. Er bedeutet, dass bei wiederholten Bestimmungen die Differenz vom gefundenen zum wahren Mittelwert in zwei von drei Fällen kleiner und in einem von drei Fällen grösser als der mittlere Fehler ist.

Diskussion der Ergebnisse.

Die untersuchten Organe stammen aus den Sektionsfällen der *Pathologisch-Anatomischen Anstalt* der Universität Basel. Es sind daher vorwiegend Organe älterer und nur ganz selten junger Individuen untersucht worden, so dass eigentliche Normalwerte kaum erhalten werden konnten.

Trotz der kleinen Zahl der einzelnen untersuchten Organe mit ihrem von Fall zu Fall sehr verschiedenen pathologisch-anatomischen Verhalten sind für die einzelnen Gewebe charakteristische Fermentmittelwerte gefunden worden. Der Fermentgehalt jedes inkretorischen Organs lässt sich in eine bestimmte Grössenordnung einreihen, in ähnlicher Art wie das für die Gehirnkerne möglich ist[1]). Werte, die über die in Tabelle III angegebene Grenze der mittleren Abweichung der Einzelbestimmung deutlich hervorragen, sind als pathologisch zu betrachten. In Verbindung mit bestimmten Krankheiten werden sie neue Einblicke in deren Mechanismus erlauben. Es ist denkbar, dass die Fermentwerte einfach proportional der Stärke der Nervenversorgung des betr. Organs seien, wie es z. B. für stark mit Nervengewebe versehene Organe wie Nebennierenmark und Hypophysen Hl mit ihrem hohen ChE-Gehalt oder auch für Organe mit geringer Innervation wie Ovar und Hoden mit ihrem geringen Gehalt annehmbar ist. Dem entgegen spricht der Umstand, dass Darmschleimhaut und Thymus, welche beide nur schwach mit Nerven versorgt sind, einen hohen Gehalt aufweisen, ebenso wie Serum und Erythrozyten, die überhaupt keine direkte Verbindung mit dem Nervensystem haben. Die Annahme einer Parallelität zwischen ChE-Aktivität und Acetylcholin-Umsatz lässt den Schluss zu, dass an den Stellen, wo viel ChE bei geringer Nervenversorgung anzutreffen ist, das ACh nicht nur die bekannte Funktion bei der chemischen Nervenreizübertragung ausübt, sondern für den allgemeinen ACh-Stoffwechsel des betreffenden Organs von Bedeutung ist. Die Beziehung des ACh zu Stoffwechselfunktionen wird besonders bei der Beeinflussung der Serum-ChE durch die Sexualhormone deutlich. Durch die Wirkung der ChE wird die ACh-Versorgung der einzelnen Organe vom Blut reguliert und damit deren Tätigkeit beeinflusst.

[1]) *H. Birkhäuser*, Helv. **23**, 1071 (1940).

Zusammenfassung.

Es wurden menschliche Organe mit innerer Sekretion einschliesslich Dünndarm auf ihren ChE-Gehalt untersucht.

Trotz eines sehr unterschiedlichen Ausgangsmaterials war es möglich zu zeigen, dass jedem Organ ein charakteristischer ChE-Gehalt zukommt.

Hohe Werte zeigen Nebennierenmark, Hypophysen Hl, Dünndarm und auch Thymus, während Hoden den geringsten ChE-Gehalt aufweist.

Besonders auffällig ist der Gehaltsunterschied von Nebennierenmark zu -rinde und der von Hypophysen Hl zu Vl.

Ich danke Herrn P.D. Dr. med. et phil. *E. A. Zeller* für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Erteilung von Ratschlägen.